

# MICROANALYSIS METHOD OF DELTAAMINOLEVULINIC ACIDS

Publication number: JP6294797

Publication date: 1994-10-21

Inventor: SHIBATA TETSUICHI; NANZAKI MITSUHIRO; TEZUKA TAKAYUKI; OZAKI KAZUYUKI

Applicant: N O K I I G & G O P U T O ELECTRON; SHIBATA TETSUICHI

Classification:

- international: C07C229/22; G01N31/00; G01N33/50; G01N33/52; G01N35/08; C07C229/00; G01N31/00; G01N33/50; G01N33/52; G01N35/08; (IPC1-7): G01N33/52; C07C229/22; G01N31/00; G01N33/50; G01N35/08

- european:

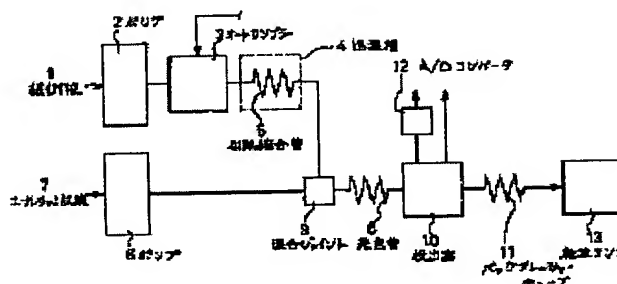
Application number: JP19920122237 19920514

Priority number(s): JP19920122237 19920514

Report a data error here

## Abstract of JP6294797

**PURPOSE:** To provide a method for quantitatively measuring a very small amount of deltaaminolevulinic acids in samples of total blood, partial blood, or urine, etc., by a flow injection method. **CONSTITUTION:** A buffer solution 1 is continuously sent by a pump 2, an analyte (A) in which alpha-aminoketones of deltaaminolevulinic acid, etc., are contained at a fixed timing by an automatic sampler 3 in the sent solution 1 and to which beta-diketones or beta-ketoesters are previously added, and an analyte (B) to which distilled water is added at the same ratio, are separately injected into it, then it is heated and condensed by a heat condensation tube 5 within a thermostatic chamber 4 being at a fixed temperature, this is mixed at a mixing joint 9 with an Ehrlich's reagent 7 sent by the other pump 6 and thereafter converted into a pigment compound by a coloring tube 8, then the content of deltaaminolevulinic acids is detected by a detecting part 10, and further the content of B is deducted from A.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-294797

(43) 公開日 平成6年(1994)10月21日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/52	C	7055-2 J		
C 0 7 C 229/22		8930-4 H		
G 0 1 N 31/00	V	7132-2 J		
33/50	T	7055-2 J		
35/08	C	7370-2 J		

審査請求 未請求 請求項の数6 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願平4-122237

(22) 出願日 平成4年(1992)5月14日

(71) 出願人 390022770  
エヌオーケーイージーアンドジーオプトエ  
レクトロニクス株式会社  
東京都港区芝大門1丁目12番15号  
(71) 出願人 592103796  
柴田 徹一  
千葉県東葛飾郡沼南町大津ヶ丘4-5-13  
-1  
(72) 発明者 柴田徹一  
千葉県東葛飾郡沼南町大津ヶ丘4-5-13  
-1  
(74) 代理人 弁理士 中林 幹雄

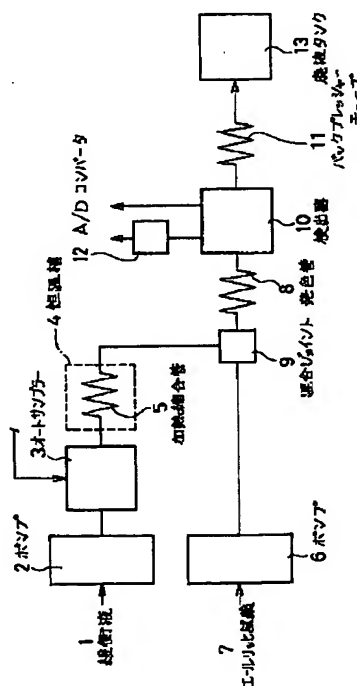
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 デルタアミノレブリン酸類の微量定量法

(57) 【要約】

【目的】 全血または部分血または尿等の検体中の微量のデルタアミノレブリン酸類をフローインジェクション法で定量測定するデルタアミノレブリン酸類の微量定量法を提供する。

【構成】 ポンプ2で緩衝液1を連続的に送液し、この送液された緩衝液1にオートサンプラー3によって所定のタイミングでデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類が含有され、かつ、あらかじめ $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類が添加された検体(A)と蒸留水を同じ比率添加された検体(B)を別々に注入し、この後、所定の温度となっている恒温槽4内の加熱縮合管5で加熱縮合し、このものを混合ジョイント9で、他のポンプ6で送られるエールリッヒ試薬7と混合したのち発色管8で色素化合物に変換し、こののち、検出部10でデルタアミノレブリン酸類の含有量を検出し、さらにAからBの含有量を差し引くようにしたことを特徴とするデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 デルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類、および $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類からなる熱縮合成績体（ピロール誘導体）と、エールリッヒ試薬との発色色素による比色定量法をフローインジェクション分析法で行うことを特徴とするデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。

【請求項2】 全血または部分血または尿である検体中のデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類を定量測定するデルタアミノレブリン酸類の微量定量法であって、ポンプ（2）で緩衝液（1）を連続的に送液し、この送液された緩衝液（1）にオートサンプラー（3）によって所定のタイミングでデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類が含有され、かつ、あらかじめ $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類が添加された検体を注入し、この後、所定の温度となっている恒温槽（4）内の加熱縮合管（5）で加熱縮合し、このものを混合ジョイント（9）で、他のポンプ（6）で送られるエールリッヒ試薬（7）と混合したのち発色管（8）で色素化合物に変換し、こののち、検出部（10）でデルタアミノレブリン酸類を検出するようにしたことを特徴とするデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。

【請求項3】 前記 $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類は、好ましくはアセチルアセトンである請求項2記載のデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。

【請求項4】 全血または部分血または尿である検体中のデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類を定量測定するデルタアミノレブリン酸類の微量定量法であって、ポンプ（2）で緩衝液（1）を連続的に送液し、この送液された緩衝液（1）にオートサンプラー（3）によって所定のタイミングでデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類が含有され、かつ、あらかじめ $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類が添加された検体を注入し、この後、所定の温度となっている恒温槽（4）内の加熱縮合管（5）で加熱縮合し、このものを混合ジョイント（9）で、他のポンプ（6）で送られるエールリッヒ試薬（7）と混合したのち発色管（8）で色素化合物に変換し、こののち、バックプレッシャーが作用されている検出部（10）でデルタアミノレブリン酸類を検出するようにしたことを特徴とするデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。

【請求項5】 前記恒温槽（4）の温度は室温から140℃またはそれ以上の温度、のぞましくは100℃～140℃である請求項4記載のデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。

【請求項6】 あらかじめ $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類の添加の代り等量の蒸留水を添加した測定値をブランクとして差し引いてデルタアミノレブリン酸値とする測定法。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 この発明はデルタアミノレブリン酸類の微量定量法に関し、特に、微量のデルタアミノレブリン酸類を迅速に定量測定することができるデルタアミノレブリン酸類の微量定量法に関するものである。

【0002】

【従来技術および解決しようとする課題】 環境汚染による鉛中毒、たとえば、自動車に用いる鉛電池工場の従業員における鉛中毒に代表されるような鉛中毒では、血中や尿中の鉛含有量と並んで、血中や尿中のデルタアミノレブリン酸の含有量が指標として重要視されている。そして、近年、労働環境整備の観点から従業員の健康管理上この指標を有効に活用して鉛中毒を初期の段階で防ぐため、尿中デルタアミノレブリン酸の測定を労働省が義務づけたことにより、鉛中毒初期の尿中のデルタアミノレブリン酸含有量を測定する感度の良い微量迅速定量法が求められている。

【0003】 現在用いられている代表的な定量法としては、1956年に開発されたマウツェラル／グラニック（Mauzeral/Granick）法である。このマウツェラル／グラニック法は、2種類のイオン交換樹脂で分離精製したデルタアミノレブリン酸類と $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類とを熱縮合し、これにエールリッヒ試薬を作用させ、比色定量したものである。しかし、この方法の問題点は、複数のアミノケトン類が分離されないまま定量されてしまうということと、分離操作など一検体当たりの分析時間が長すぎるということであった。その他、その変動係数（CV値）は原法では2.7～13%で、ベルリン（Berlin）らの報告では5.6～32.2%と誤差が幅広く、個人の手技や施設の違いで極端に異なった値が出てくるという問題点も有していた。

【0004】 1967年にグラベッキ（Grabacki）は分離操作を除きアセチルアセトン無添加のブランク（主にボルフォビリノーゲン（PBG））を差し引いて簡素化した、加熱縮合反応と比色定量操作を用手法でこなすには一人で一日数十検体までで、処理能力にも問題があった。

【0005】 また、1972年にルウェリー（Lowerys）らは、ベリスタ型の比例ポンプ（proportioning pump）に11本のシリコンチューブを接続して自動分析器を試作したが、20 $\mu$ g/ml以下の薄い濃度の尿では測定できないので既知のデルタアミノレブリン酸を添加した5点を測定して、これを外挿して原液中の含量を算出した。この自動化は1974年にビアンコ（Bianco）らが、また、1975年にセキ（Sekel）らがテクニコンのオートアナライザーに組み込んだ。そして、1981年にバルデューク・アオウアディ（Balduyck-Aouad）

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 デルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類、および $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類からなる熱縮合成績体(ピロール誘導体)と、エールリッヒ試薬との発色色素による比色定量法をフローインジェクション分析法で行うことを特徴とするデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。

【請求項2】 全血または部分血または尿である検体中のデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類を定量測定するデルタアミノレブリン酸類の微量定量法であって、ポンプ(2)で緩衝液(1)を連続的に送液し、この送液された緩衝液(1)にオートサンプラー(3)によって所定のタイミングでデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類が含有され、かつ、あらかじめ $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類が添加された検体を注入し、この後、所定の温度となっている恒温槽(4)内の加熱縮合管(5)で加熱縮合し、このものを混合ジョイント(9)で、他のポンプ(6)で送られるエールリッヒ試薬(7)と混合したのち発色管(8)で色素化合物に変換し、こののち、検出部(10)でデルタアミノレブリン酸類を検出するようにしたことを特徴とするデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。

【請求項3】 前記 $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類は、好ましくはアセチルアセトンである請求項2記載のデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。

【請求項4】 全血または部分血または尿である検体中のデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類を定量測定するデルタアミノレブリン酸類の微量定量法であって、ポンプ(2)で緩衝液(1)を連続的に送液し、この送液された緩衝液(1)にオートサンプラー(3)によって所定のタイミングでデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -アミノケトン類が含有され、かつ、あらかじめ $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類が添加された検体を注入し、この後、所定の温度となっている恒温槽(4)内の加熱縮合管(5)で加熱縮合し、このものを混合ジョイント(9)で、他のポンプ(6)で送られるエールリッヒ試薬(7)と混合したのち発色管(8)で色素化合物に変換し、こののち、バックプレッシャーが作用されている検出部(10)でデルタアミノレブリン酸類を検出するようにしたことを特徴とするデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。

【請求項5】 前記恒温槽(4)の温度は室温から140℃またはそれ以上の温度、のぞましくは100℃～140℃である請求項4記載のデルタアミノレブリン酸類の微量定量法。

【請求項6】 あらかじめ $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類の添加の代り等量の蒸留水を添加した測定値をブランクとして差し引いてデルタアミノレブリン酸値とする測定法。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】この発明はデルタアミノレブリン酸類の微量定量法に関し、特に、微量のデルタアミノレブリン酸類を迅速に定量測定することができるデルタアミノレブリン酸類の微量定量法に関するものである。

【0002】

【従来技術および解決しようとする課題】環境汚染による鉛中毒、たとえば、自動車に用いる鉛電池工場の従業員における鉛中毒に代表されるような鉛中毒では、血中や尿中の鉛含有量と並んで、血中や尿中のデルタアミノレブリン酸の含有量が指標として重要視されている。そして、近年、労働環境整備の観点から従業員の健康管理上この指標を有効に活用して鉛中毒を初期の段階で防ぐため、尿中デルタアミノレブリン酸の測定を労働省が義務づけたことにより、鉛中毒初期の尿中のデルタアミノレブリン酸含有量を測定する感度の良い微量迅速定量法が求められている。

【0003】現在用いられている代表的な定量法としては、1956年に開発されたマウツェラル/グラニック(Mauzerall/Granick)法である。このマウツェラル/グラニック法は、2種類のイオン交換樹脂で分離精製したデルタアミノレブリン酸類と $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類とを熱縮合し、これにエールリッヒ試薬を作用させ、比色定量したものである。しかし、この方法の問題点は、複数のアミノケトン類が分離されないまま定量されてしまうということと、分離操作など一検体当たりの分析時間が長すぎるということであった。その他、その変動係数(CV値)は原法では2.7～13%で、ベルリン(Berlin)らの報告では5.6～32.2%と誤差が幅広く、個人の手法や施設の違いで極端に異なった値が出てくるという問題点も有していた。

【0004】1967年にグラベッキ(Grabecki)は分離操作を除きアセチルアセトン無添加のブランク{主にポルフォビリノーゲン(PBG)}を差し引いて簡素化したが、加熱縮合反応と比色定量操作を用手法でこなすには一人で一日数十検体までで、処理能力にも問題があった。

【0005】また、1972年にルウェリー(Lowerys)らは、ベリスタ型の比例ポンプ(proportioning pump)に11本のシリコンチューブを接続して自動分析器を試作したが、20 $\mu$ g/ml以下の薄い濃度の尿では測定できないので既知のデルタアミノレブリン酸を添加した5点を測定して、これを外挿して原液中の含量を算出した。この自動化は1974年にビアンコ(Bianco)らが、また、1975年にセキ(Seki)らがテクニコンのオートアナライザーに組み込んだ。そして、1981年にバルデューク-アウアディ(Balduyck-Aouad

1) らが更に6  $\mu\text{M}$  (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) まで感度を上げた  
と報告したが追試では5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  でも再現性が困難と  
されている。

【0006】一方、1960年代からクロマトグラフィー  
{ガスクロマトグラフィー (GC) と、高速液体クロ  
マトグラフィー (HPLC)} と、これに質量分析器と  
連動など、さらにポストラベルやプレラベル技術ととも  
に多くの研究者がこれらアミノケトン類の精密な分析に  
挑戦した結果、デルタアミノレブリン酸の尿中含有量が  
5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上では殆どがデルタアミノレブリン酸で  
あり、その以下の濃度では検体中にアミノアセトンの混  
入が確かめられた。このアミノアセトンも鉛中毒で増加  
するので鉛中毒の指標としては大きな間違いにはならな  
いとされてきた。

【0007】但し、これらクロマトグラフィーの文献に  
おける1検体当たりの分析時間は、少なくとも20分、  
長くて1時間以上を要していたので健康管理など多数検  
体の処理には到底実用化は無理であった。

【0008】以上述べた文献上の知見から次のような見  
通しが得られた。すなわち、エールリッヒ試薬で $\beta$ -ジ  
ケトンや $\beta$ -ケトエステル類なしでも発色するポルフォ  
ビリノーゲン (PBG) 類に基づく吸光度をブランクとし  
て測定しておいて、一方、 $\beta$ -ジケトンや $\beta$ -ケトエ  
ステル類を添加して吸光度を測定し、この吸光度から先  
のブランクの吸光度を引けば鉛中毒の指標としてのデル  
タアミノレブリン酸類の量が算出可能と推定できた。

【0009】この発明の目的は、少なくとも一検体当  
たりの測定時間を3分以下とするとともに、0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$   
以下を測定限界に設定でき、変動係数 (CV値) を  
約5%以下の測定精度とすることができ、しかも、安価  
に測定することのできるデルタアミノレブリン酸類の微  
量定量法を提供することにある。

【0010】

【問題点を解決するための手段】上記の目的を達成す  
るためにこの発明は、デルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -  
アミノケトン類、および $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエ  
ステル類からなる熱縮合生成体 (ピロール誘導体) と、  
エールリッヒ試薬との発色色素による比色定量法をフロ  
ーインジェクション分析法で行うようにした。

【0011】また、この発明は、全血または部分血また  
は尿である検体中のデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -  
アミノケトン類を定量測定するデルタアミノレブリン酸  
類の微量定量法であって、ポンプで緩衝液を連続的に送  
液し、この送液された緩衝液にオートサンプラーによっ  
て所定のタイミングでデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -  
アミノケトン類が含有し、かつ、あらかじめ $\beta$ -ジケ  
トンまたは $\beta$ -ケトエステル類が添加された検体を注入  
し、この後、所定の温度となっている恒温槽内の加熱縮  
合管で加熱縮合し、このものを混合ジョイントで、他の  
ポンプで送られるエールリッヒ試薬と混合したのち発色

管で色素化合物に変換し、こののち、検出部でデルタア  
ミノレブリン酸類を検出するようにした。この場合、 $\beta$ -  
ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類は、好ましくはア  
セチルアセトンである。

【0012】また、この発明は、全血または部分血また  
は尿である検体中のデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -  
アミノケトン類を定量測定するデルタアミノレブリン酸  
類の微量定量法であって、ポンプで緩衝液を連続的に送  
液し、この送液された緩衝液にオートサンプラーによっ  
て所定のタイミングでデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -  
アミノケトン類が含有し、かつ、あらかじめ $\beta$ -ジケ  
トンまたは $\beta$ -ケトエステル類が添加された検体を注入  
し、この後、所定の温度となっている恒温槽内の加熱縮  
合管で加熱縮合し、このものを混合ジョイントで、他の  
ポンプで送られるエールリッヒ試薬と混合したのち発色  
管で色素化合物に変換し、こののち、バックプレッシャ  
ーが作用されている検出部でデルタアミノレブリン酸類  
を検出するようにした。この場合、前記恒温槽の温度を  
100℃～140℃とした。

【0013】

【作用】この発明は上記の手段を採用したことにより、  
検体中のデルタアミノレブリン酸類は $\beta$ -ジケトンまた  
は $\beta$ -ケトエステル類が混入した状態で緩衝液とともに  
所定の温度となっている加熱縮合管に送られ、この加熱  
縮合管で加熱縮合され、送液されるエールリッヒ試薬と  
混合ジョイントで混合されて発色管で発色され、このの  
ち、検出部でデルタアミノレブリン酸類が検出されるこ  
とになる。

【0014】

【実施例】以下、図面に示すこの発明の実施例につい  
て説明する。図1および図2にはこの発明によるデルタア  
ミノレブリン酸類の微量定量法を実施するための装置が  
示されている。

【0015】この装置において、熱縮合用の緩衝液 (キ  
ャリアー液) 1はポンプ2によってオートサンプラー3  
に送られ、このオートサンプラー3において試料 (検  
体) が自動注入される。

【0016】また、試料が自動注入された緩衝液1はさ  
らにヒーターを有する油浴またはアルミブロック恒温槽  
4に送られ、この油浴またはアルミブロック恒温槽4の  
内部の加熱縮合管5で加熱縮合反応される。

【0017】一方、ポンプ6によって送られるエールリ  
ッヒ試薬7は発色管8に至る過程で混合ジョイント9に  
おいて前記加熱縮合反応された緩衝液1に混入され、こ  
の後、検出器10である比色定量装置で定量分析され、  
分析した結果がレコーダに、またはA/Dコンバーター  
12を介してコンピューターに入力され、さらに、コン  
ピューターの出力は前記オートサンプラー3に試料を自  
動注入する信号に利用されるようになっている。

【0018】また、測定後の廃液は前記検出器10から

i) らが更に6  $\mu\text{M}$  (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) まで感度を上げた  
と報告したが追試では5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  でも再現性が困難と  
されている。

【0006】一方、1960年代からクロマトグラフィー  
〔ガスクロマトグラフィー (GC) と、高速液体クロ  
マトグラフィー (HPLC) 〕と、これに質量分析器と  
連動など、さらにポストラベルやプレラベル技術ととも  
に多くの研究者がこれらアミノケトン類の精密な分析に  
挑戦した結果、デルタアミノレブリン酸の尿中含有量が  
5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上では殆どがデルタアミノレブリン酸で  
あり、その以下の濃度では検体中にアミノアセトンの混  
入が確かめられた。このアミノアセトンも鉛中毒で増加  
するので鉛中毒の指標としては大きな間違いにはならな  
いとされてきた。

【0007】但し、これらクロマトグラフィーの文献に  
おける1検体当たりの分析時間は、少なくとも20分、  
長くて1時間以上を要していたので健康管理など多数検  
体の処理には到底実用化は無理であった。

【0008】以上述べた文献上の知見から次のような見  
通しが得られた。すなわち、エールリッヒ試薬で $\beta$ -ジ  
ケトンや $\beta$ -ケトエステル類なしでも発色するポルフォ  
ビリノーゲン (PBG) 類に基づく吸光度をブランクと  
して測定しておいて、一方、 $\beta$ -ジケトンや $\beta$ -ケトエ  
ステル類を添加して吸光度を測定し、この吸光度から先  
のブランクの吸光度を引けば鉛中毒の指標としてのデル  
タアミノレブリン酸類の量が算出可能と推定できた。

【0009】この発明の目的は、少なくとも一検体当た  
りの測定時間を3分以下とするとともに、0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$   
以下を測定限界に設定でき、変動係数 (CV値) を  
約5%以下の測定精度とすることができ、しかも、安価  
に測定することのできるデルタアミノレブリン酸類の微  
量定量法を提供することにある。

【0010】

【問題点を解決するための手段】上記の目的を達成する  
ためにこの発明は、デルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -  
アミノケトン類、および $\beta$ -ジケトンまたは $\beta$ -ケトエ  
ステル類からなる熱縮合生成体 (ピロール誘導体) と、  
エールリッヒ試薬との発色色素による比色定量法をフロ  
ーインジェクション分析法で行うようにした。

【0011】また、この発明は、全血または部分血また  
は尿である検体中のデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -  
アミノケトン類を定量測定するデルタアミノレブリン酸  
類の微量定量法であって、ポンプで緩衝液を連続的に送  
液し、この送液された緩衝液にオートサンプラーによっ  
て所定のタイミングでデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -  
アミノケトン類が含有し、かつ、あらかじめ $\beta$ -ジケ  
トンまたは $\beta$ -ケトエステル類が添加された検体を注入  
し、この後、所定の温度となっている恒温槽内の加熱縮  
合管で加熱縮合し、このものを混合ジョイントで、他の  
ポンプで送られるエールリッヒ試薬と混合したのち発色

管で色素化合物に変換し、こののち、検出部でデルタア  
ミノレブリン酸類を検出するようにした。この場合、 $\beta$ -  
ジケトンまたは $\beta$ -ケトエステル類は、好ましくはア  
セチルアセトンである。

【0012】また、この発明は、全血または部分血また  
は尿である検体中のデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -  
アミノケトン類を定量測定するデルタアミノレブリン酸  
類の微量定量法であって、ポンプで緩衝液を連続的に送  
液し、この送液された緩衝液にオートサンプラーによっ  
て所定のタイミングでデルタアミノレブリン酸などの $\alpha$ -  
アミノケトン類が含有し、かつ、あらかじめ $\beta$ -ジケ  
トンまたは $\beta$ -ケトエステル類が添加された検体を注入  
し、この後、所定の温度となっている恒温槽内の加熱縮  
合管で加熱縮合し、このものを混合ジョイントで、他の  
ポンプで送られるエールリッヒ試薬と混合したのち発色  
管で色素化合物に変換し、こののち、バックプレッシャ  
ーが作用されている検出部でデルタアミノレブリン酸類  
を検出するようにした。この場合、前記恒温槽の温度を  
100℃~140℃とした。

【0013】

【作用】この発明は上記の手段を採用したことにより、  
検体中のデルタアミノレブリン酸類は $\beta$ -ジケトンまた  
は $\beta$ -ケトエステル類が混入した状態で緩衝液とともに  
所定の温度となっている加熱縮合管に送られ、この加熱  
縮合管で加熱縮合され、送液されるエールリッヒ試薬と  
混合ジョイントで混合されて発色管で発色され、このの  
ち、検出部でデルタアミノレブリン酸類が検出されるこ  
とになる。

【0014】

【実施例】以下、図面に示すこの発明の実施例につい  
て説明する。図1および図2にはこの発明によるデルタア  
ミノレブリン酸類の微量定量法を実施するための装置が  
示されている。

【0015】この装置において、熱縮合用の緩衝液 (キ  
ャリアー液) 1はポンプ2によってオートサンプラー3  
に送られ、このオートサンプラー3において試料 (検  
体) が自動注入される。

【0016】また、試料が自動注入された緩衝液1はさ  
らにヒーターを有する油浴またはアルミブロック恒温槽  
4に送られ、この油浴またはアルミブロック恒温槽4の  
内部の加熱縮合管5で加熱縮合反応される。

【0017】一方、ポンプ6によって送られるエールリ  
ッヒ試薬7は発色管8に至る過程で混合ジョイント9に  
おいて前記加熱縮合反応された緩衝液1に混入され、こ  
の後、検出器10である比色定量装置で定量分析され、  
分析した結果がレコーダに、またはA/Dコンバーター  
12を介してコンピューターに入力され、さらに、コン  
ピューターの出力は前記オートサンプラー3に試料を自  
動注入する信号に利用されるようになっている。

【0018】また、測定後の廃液は前記検出器10から

廃液タンク13に排出されるようになっており、前記加熱縮合管5を100℃以上に加熱する場合はHPLC（液体クロマトグラフィ）用のバックプレッシャーチューブ11を前記検出器10と廃液タンク13との間に接続して気泡が検出器10に混入することで生じるノイズを防止するようにした。

【0019】上記が装置の概略であり、以下、さらに詳細に説明する。まず、熱縮合用の緩衝液（キャリアー液）1を液送するためのポンプ2としてマイクロボリューム化したダブルプランジャー型液送ポンプを使用して

10 いる。  
【0020】熱縮合用の緩衝液1は、酢酸／酢酸ソーダ緩衝液の他に弱酸性ばかりでなく中性や弱塩基性でも良く、広い範囲で縮合は可能である。

【0021】検体に添加される縮合試薬のβ-ジケトンやβ-ケトエステル類は、それぞれアセチルアセトンやアセト酢酸メチルエステルまたはアセト酢酸エチルエステルを用いたが、本来検体中に存在している阻害物質の値を検知するために縮合試薬が無い状態、すなわち、ブランクで測定する必要がある、このブランクの測定を配

20 慮して検体の中に10%添加した。  
【0022】熱縮合反応を行うヒーターを有する恒温槽4は、油浴またはアルミブロック型としたので100℃～140℃の間の安定性は±0.1℃となっており、加熱とともに測定感度も上昇したが、測定者の安全等をも考慮して上記温度範囲で行うのが適当である。

【0023】一方、ポンプ6で送液されるエールリッヒ試薬7は、一般的にはパラ・ジメチルアミノベンズアルデヒドの強酸溶液を言い、過塩素酸、塩酸、および硫酸を用いるが、この発明においては界面活性剤【ポリエチレングリコールパラ・イソオクチルフェニルエーテル（トリトンX-100 ローム・アンド・ハース）（Rohm & Haas）製】を用いた。

【0024】前記検出器10の波長を決定するために、検体よりも高濃度のデルタアミノレブリン酸の標準サンプル（80μg）にβ-ジケトンまたはβ-ケトエステルと緩衝液を添加して1mlとし、これを加熱縮合し、これに等量のエールリッヒ試薬を加えて発色させ、その吸収波長と、その生成と、減衰曲線とを描いてその時定数を求めた（図3および図4参照）。

【0025】一方、前記ブランクの測定用としてポルフォピリノーゲンの標準サンプル（80μg/ml）に同じく等量のエールリッヒ試薬を加え、同様の吸収波長と、その生成と、減衰曲線とを描き、同様に時定数を求めた（図5および図6参照）。

【0026】前記オートサンプラー3で自動注入する検体の注入量は20μl～1mlまでとして検体の濃度に対応できるようにした。

【0027】なお、検体の注入間隔はパーソナルコンピュータと連結し、吸光度測定の実体番号との対応を付

けて一覧表に打ち出せるようなプログラムを作成した。

【0028】前記検出器10における吸光度はA/D変換器12を介してパーソナルコンピュータに送られ、画面上で各検体番号毎のピークをリアルタイム表示し、同時に演算し、吸収面積（μm<sup>2</sup>）、吸光度（高さ；μm）を求め、その他データ処理を行うようにした。

【0029】また、各機器を0.25～1.5mmのステンレスチューブ、またはピーク（PEEK）チューブで連結した。接合部の混合ジョイント9としては通常のHPLC（高速液体クロマトグラフィ）用の二方混合器を用いた。前記加熱縮合管5は10m～40m、発色管8は2m～15mの範囲での条件を検討した。

【0030】なお、前記したように検出器10に設定する吸収波長と発色管の長さとの決定のための具体的な測定は用手法で以下のように行った。すなわち、デルタアミノレブリン酸（δ-ALA）80μgにアセチルアセトンを10%含む緩衝液を1ml加え、沸騰水浴上で20分加熱縮合し、これにエールリッヒ試薬を1ml混合し、直ちに吸収曲線（10倍希釈を図3に示す（極大波長555nm、ε=1.854×10<sup>4</sup>））と、原液の発色（減衰）曲線を描き、その時定数を求めた（図4）。

【0031】この発色物質は1時間に13.5%減衰した。同時に尿中含量測定の際、ブランクとして測定されるポルフォピリノーゲンを80μgに上で述べたのと同様にアセチルアセトンを10%含む緩衝液を1ml加え、沸騰水浴上で20分加熱縮合し、これにエールリッヒ試薬を1ml混合し、直ちに吸収曲線（10倍希釈を図5に示す（極大波長556nm、ε=1.444×10<sup>4</sup>））と、発色（減衰）曲線とを描き、その時定数を求めた（図6）。この場合は減衰が早く1時間に49.7%も減衰していた。

【0032】したがって、上記のことを参照して前記検出器10に設定する吸収波長と発色管8の長さとの決定した。

【0033】〔実施例-1〕緩衝液1に酢酸／酢酸ナトリウム（0.1M、pH4.6）を用い、ダブルプランジャー型液送ポンプ2（島津製 LC-9A）で2.00ml/minの流速で送液し、オートサンプラー3（協和精密製 KMT-200FIA）でサンプル溶液（尿0.45ml+アセチルアセトン0.5ml）を50μl注入し、加熱縮合管5は内径0.8mmのステンレスチューブを40m巻いてまたは内径0.75mmのPEEKチューブ25mを巻いてシリコン油浴の恒温槽4中に浸し温度を100±0.01℃に設定した。

【0034】一方、エールリッヒ試薬7として、パラ・ジメチルアミノベンズアルデヒドを102.6gと、20%トリトンX-100を500mlと、20%硫酸水溶液を500mlとの混合溶液またはその4倍希釈液を0.5μmの滅菌フィルタで濾過したものを使用し、ダ



廃液タンク13に排出されるようになっており、前記加熱縮合管5を100℃以上に加熱する場合はHPLC（液体クロマトグラフィ）用のバックプレッシャーチューブ11を前記検出器10と廃液タンク13との間に接続して気泡が検出器10に混入することで生じるノイズを防止するようにした。

【0019】上記が装置の概略であり、以下、さらに詳細に説明する。まず、熱縮合用の緩衝液（キャリアー液）1を液送するためのポンプ2としてマイクロボリュウム化したダブルプランジャー型液送ポンプを使用して

【0020】熱縮合用の緩衝液1は、酢酸／酢酸ソーダ緩衝液の他に弱酸性ばかりでなく中性や弱塩基性でも良く、広い範囲で縮合は可能である。

【0021】検体に添加される縮合試薬のβ-ジケトンやβ-ケトエステル類は、それぞれアセチルアセトンやアセト酢酸メチルエステルまたはアセト酢酸エチルエステルを用いたが、本来検体中に存在している阻害物質の値を検知するために縮合試薬が無い状態、すなわち、ブランクで測定する必要がある、このブランクの測定を配

【0022】熱縮合反応を行うヒーターを有する恒温槽4は、油浴またはアルミブロック型としたので100℃～140℃の間の安定性は±0.1℃となっており、加熱とともに測定感度も上昇したが、測定者の安全等をも考慮して上記温度範囲で行うのが適当である。

【0023】一方、ポンプ6で送液されるエールリッヒ試薬7は、一般的にはパラ・ジメチルアミノベンズアルデヒドの強酸溶液を言い、過塩素酸、塩酸、および硫酸を用いるが、この発明においては界面活性剤【ポリエチレングリコールパラ・イソオクチルフェニルエーテル（トリトンX-100 ローム・アンド・ハース）（Rohm&Haas）製】を用いた。

【0024】前記検出器10の波長を決定するために、検体よりも高濃度のデルタアミノレブリン酸の標準サンプル（80μg）にβ-ジケトンまたはβ-ケトエステルと緩衝液を添加して1mlとし、これを加熱縮合し、これに等量のエールリッヒ試薬を加えて発色させ、その吸収波長と、その生成と、減衰曲線とを描いてその時定数を求めた（図3および図4参照）。

【0025】一方、前記ブランクの測定用としてポルフォビリノーゲンの標準サンプル（80μg/ml）に同じく等量のエールリッヒ試薬を加え、同様の吸収波長と、その生成と、減衰曲線とを描き、同様に時定数を求めた（図5および図6参照）。

【0026】前記オートサンプラー3で自動注入する検体の注入量は20μl～1mlまでとして検体の濃度に対応できるようにした。

【0027】なお、検体の注入間隔はパーソナルコンピューターと連結し、吸光度測定の見検体番号との対応を付

けて一覧表に打ち出せるようなプログラムを作成した。

【0028】前記検出器10における吸光度はA/D変換器12を介してパーソナルコンピューターに送られ、画面上で各検体番号毎のピークをリアルタイム表示し、同時に演算し、吸収面積（μm<sup>2</sup>）、吸光度（高さ；μm）を求め、その他データ処理を行うようにした。

【0029】また、各機器を0.25～1.5mmのステンレスチューブ、またはピーク（PEEK）チューブで連結した。接合部の混合ジョイント9としては通常のHPLC（高速液体クロマトグラフィ）用の二方混合器を用いた。前記加熱縮合管5は10m～40m、発色管8は2m～15mの範囲での条件を検討した。

【0030】なお、前記したように検出器10に設定する吸収波長と発色管の長さを決定するための具体的な測定は用手法で以下のように行った。すなわち、デルタアミノレブリン酸（δ-ALA）80μgにアセチルアセトンを10%含む緩衝液を1ml加え、沸騰水浴上で20分加熱縮合し、これにエールリッヒ試薬を1ml混合し、直ちに吸収曲線【10倍希釈を図3に示す（極大波長555nm、ε=1.854×10<sup>4</sup>）】と、原液の発色（減衰）曲線を描き、その時定数を求めた（図4）。

【0031】この発色物質は1時間に13.5%減衰した。同時に尿中含量測定の際、ブランクとして測定されるポルフォビリノーゲンを80μgに上で述べたのと同様にアセチルアセトンを10%含む緩衝液を1ml加え、沸騰水浴上で20分加熱縮合し、これにエールリッヒ試薬を1ml混合し、直ちに吸収曲線【10倍希釈を図5に示す（極大波長556nm、ε=1.444×10<sup>4</sup>）】と、発色（減衰）曲線とを描き、その時定数を求めた（図6）。この場合は減衰が早く1時間に49.7%も減衰していた。

【0032】したがって、上記のことを参照して前記検出器10に設定する吸収波長と発色管8の長さを決定した。

【0033】【実施例-1】緩衝液1に酢酸／酢酸ナトリウム（0.1M、pH4.6）を用い、ダブルプランジャー型液送ポンプ2（島津製 LC-9A）で2.00ml/minの流速で送液し、オートサンプラー3（協和精密製 KMT-200FIA）でサンプル溶液（尿0.45ml+アセチルアセトン0.5ml）を50μl注入し、加熱縮合管5は内径0.8mmのステンレスチューブを40m巻いてまたは内径0.75mmのPEEKチューブ25mを巻いてシリコン油浴の恒温槽4中に浸し温度を100±0.01℃に設定した。

【0034】一方、エールリッヒ試薬7として、パラ・ジメチルアミノベンズアルデヒドを102.6gと、20%トリトンX-100を500mlと、20%硫酸水溶液を500mlとの混合溶液またはその4倍希釈液を0.5μmの滅菌フィルタで濾過したものを使用し、ダ



ブルランジャー型液送ポンプ6（島津製 LC-9A）で2.00ml/minの流速で送液して、加熱縮合管5で100±0.01℃で加熱縮合した緩衝液1と混合ジョイント9において混合した。

【0035】また、混合発色には、ステンレス（0.8mm）またはPEEKチューブ（0.75mm）の発色管8を5m用いて検出器10に接続し、検出器10で設定波長を555nmで検出した。そして、3分間隔で200検体を測定すると約10時間で完了したので、1日2回自動運転して400検体を処理できた。

【0036】さらに、濃度2.5μg/ml、5μg/ml、10μg/ml、20μg/ml、40μg/ml、80μg/mlで、各3回測定した結果、変動係数は、それぞれ、9.89%、6.05%、9.60%、0.64%、3.26%、3.71%となり、さらに、検量線の相関係数は $r=0.9978$ であった。

【0037】〔実施例-2〕実施例-1と同様に、ダブルランジャー型液送ポンプ2（島津製 LC-9A）で酢酸ナトリウム（0.1M、pH7.8）を、ダブルランジャー型液送ポンプ6（島津製 LC-9A）でエーリッヒ試薬をそれぞれ送液した。

【0038】オートサンプラー3（GILSON Model 201）でサンプル溶液（デルタアミノレブリン酸標準液45μl+アセチルアセトン5μl）を注入し、加熱縮合管5を内径0.8mmのステンレスチューブまたはPEEKチューブ20mをアルミブロック製の恒温槽4に入れ、温度を120℃に設定した。

【0039】ダブルランジャー型液送ポンプ2、6の流量はそれぞれ1.5ml/minである。

【0040】発色管8には内径0.75mm、長さ6mのピーク（PEEK）チューブを用い、エーリッヒ試薬を混合して発色した試料は検出器10（島津製 LC-9AV）で上記したような方法で決定した設定波長560nmで検出した。

【0041】そして、図7に示すように、濃度2.5μg/ml、5μg/ml、10μg/mlで、各3回測定を行った結果、相関係数 $r=0.9997$ という非常に良いリニアリティが得られた。また、CV値は2%以下と良好であった。1検体あたり2分で測定できたので、1日あたり700検体の処理が可能になった。

【0042】〔参考例-1〕濃度2.5μg/ml、5.0μg/ml、40μg/mlのデルタアミノレブリン酸溶液（含10%アセチルアセトン）のアセチルアセトンとの混合時間を変化させた。

【0043】この試料を実施例-2の方法で測定した結果、40℃で3時間、70℃で1時間または95℃で15分混合させた試料では、吸光度の変化はなく安定した測定が期待できる結果となった（図8および図9参照）。

【0044】〔参考例-2〕参考例-1の測定で加熱縮

合管5を収納したアルミブロック製の恒温槽4の温度を100℃～140℃までの範囲で10℃おきに変えて吸光度の変化を見た。濃度を5μg/ml、10μg/ml、20μg/mlで行ったが、いずれも温度が高い時ほど吸光度が大きくなる傾向が出た（図10）が、装置および物質の安定性から反応温度は120℃が好ましい。

【0045】上記のように従来使用されていた測定法との相関性、再現性そしてデルタアミノレブリン酸類の測定法として、アセチルアセトン添加の有無の差をパーソナルコンピュータ上で算出して求めることができる。

【0046】なお、実施例-1、実施例-2においては、サンプル溶液の中に、β-ジケトンまたはβ-ケトエステル類であるアセチルアセトンを注入し、加熱後これをオートサンプラーで緩衝液の中に混入したが、あらかじめ、緩衝液にアセチルアセトンを添加注入し、この緩衝液の中にオートサンプラーでサンプル溶液を混入しても良いものである。

【0047】

【発明の効果】この発明は前記のような検体である血中または尿中のデルタアミノレブリン酸類の微量定量測定を精度良く行うことができ、しかも、従来のものと比較して検出限界を小さくできるとともに、変動係数を小さくして測定誤差を少なくできる。さらに、測定時間を短くすることができるので1日の測定検体数を大幅に多くすることができるので測定に要するランニングコストを低減することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】この発明によるデルタアミノレブリン酸類の微量定量法を実施するための装置を示す図である。

【図2】この発明によるデルタアミノレブリン酸類の微量定量法を説明するための図である。

【図3】デルタアミノレブリン酸を用手法で発色させ測定した時の吸収曲線を示す図である。

【図4】デルタアミノレブリン酸を用手法で発色し測定した時の560nmに於ける吸光度の経時変化を示す図である。

【図5】ブランクとして使用するポリフォビリノーゲンの吸収曲線を示す図である。

【図6】ブランクとして使用するポリフォビリノーゲンの発色後、560nmに於ける吸光度の経時変化を示す図である。

【図7】実施例-2で求められたデルタアミノレブリン酸濃度と吸光度との関係を示す図である。

【図8】異なる濃度及び温度でのデルタアミノレブリン酸とアセチルアセトンとの混合時間と吸光度との関係を示す図である。

【図9】デルタアミノレブリン酸-アセチルアセトン反応、およびデルタアミノレブリン酸-アセト酢酸メチル反応における混合時間と吸光度との関係を示す図であ

ブルランジャー型液送ポンプ6（島津製 LC-9A）で、2.00ml/minの流速で送液して、加熱縮合管5で100±0.01℃で加熱縮合した緩衝液1と混合ジョイント9において混合した。

【0035】また、混合発色には、ステンレス（0.8mm）またはPEEKチューブ（0.75mm）の発色管8を5m用いて検出器10に接続し、検出器10で設定波長を555nmで検出した。そして、3分間隔で200検体を測定すると約10時間で完了したので、1日2回自動運転して400検体を処理できた。

【0036】さらに、濃度2.5μg/ml、5μg/ml、10μg/ml、20μg/ml、40μg/ml、80μg/mlで、各3回測定した結果、変動係数は、それぞれ、9.89%、6.05%、9.60%、0.64%、3.26%、3.71%となり、さらに、検量線の相関係数は $r=0.9978$ であった。

【0037】【実施例-2】実施例-1と同様に、ダブルランジャー型液送ポンプ2（島津製 LC-9A）で酢酸ナトリウム（0.1M、pH7.8）を、ダブルランジャー型液送ポンプ6（島津製 LC-9A）でエーリッヒ試薬をそれぞれ送液した。

【0038】オートサンプラー3（GILSON Model 201）でサンプル溶液（デルタアミノレブリン酸標準液45μl+アセチルアセトン5μl）を注入し、加熱縮合管5を内径0.8mmのステンレスチューブまたはPEEKチューブ20mをアルミブロック製の恒温槽4に入れ、温度を120℃に設定した。

【0039】ダブルランジャー型液送ポンプ2、6の流量はそれぞれ1.5ml/minである。

【0040】発色管8には内径0.75mm、長さ6mのピーク（PEEK）チューブを用い、エーリッヒ試薬を混合して発色した試料は検出器10（島津製LC-9AV）で上記したような方法で決定した設定波長560nmで検出した。

【0041】そして、図7に示すように、濃度2.5μg/ml、5μg/ml、10μg/mlで、各3回測定を行った結果、相関係数 $r=0.9997$ という非常に良いリニアリティが得られた。また、CV値は2%以下と良好であった。1検体あたり2分で測定できたので、1日あたり700検体の処理が可能になった。

【0042】【参考例-1】濃度2.5μg/ml、5.0μg/ml、40μg/mlのデルタアミノレブリン酸溶液（含10%アセチルアセトン）のアセチルアセトンとの混合時間を変化させた。

【0043】この試料を実施例-2の方法で測定した結果、40℃で3時間、70℃で1時間または95℃で15分混合させた試料では、吸光度の変化はなく安定した測定が期待できる結果となった（図8および図9参照）。

【0044】【参考例-2】参考例-1の測定で加熱縮

合管5を収納したアルミブロック製の恒温槽4の温度を100℃～140℃までの範囲で10℃おきに変えて吸光度の変化を見た。濃度を5μg/ml、10μg/ml、20μg/mlで行ったが、いずれも温度が高い時ほど吸光度が大きくなる傾向が出た（図10）が、装置および物質の安定性から反応温度は120℃が好ましい。

【0045】上記のように従来使用されていた測定法との相関性、再現性そしてデルタアミノレブリン酸類の測定法として、アセチルアセトン添加の有無の差をパーソナルコンピュータ上で算出して求めることができる。

【0046】なお、実施例-1、実施例-2においては、サンプル溶液の中に、β-ジケトンまたはβ-ケトエステル類であるアセチルアセトンを注入し、加熱後これをオートサンプラーで緩衝液の中に混入したが、あらかじめ、緩衝液にアセチルアセトンを添加注入し、この緩衝液の中にオートサンプラーでサンプル溶液を混入しても良いものである。

【0047】

【発明の効果】この発明は前記のようなので検体である血中または尿中のデルタアミノレブリン酸類の微量定量測定を精度良く行うことができ、しかも、従来のものと比較して検出限界を小さくできるとともに、変動係数を小さくして測定誤差を少なくできる。さらに、測定時間を短くすることができるので1日の測定検体数を大幅に多くすることができるので測定に要するランニングコストを低減することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】この発明によるデルタアミノレブリン酸類の微量定量法を実施するための装置を示す図である。

【図2】この発明によるデルタアミノレブリン酸類の微量定量法を説明するための図である。

【図3】デルタアミノレブリン酸を用手法で発色させ測定した時の吸収曲線を示す図である。

【図4】デルタアミノレブリン酸を用手法で発色し測定した時の560nmに於ける吸光度の経時変化を示す図である。

【図5】ブランクとして使用するポリフォピリノーゲンの吸収曲線を示す図である。

【図6】ブランクとして使用するポリフォピリノーゲンの発色後、560nmに於ける吸光度の経時変化を示す図である。

【図7】実施例-2で求められたデルタアミノレブリン酸濃度と吸光度との関係を示す図である。

【図8】異なる濃度及び温度でのデルタアミノレブリン酸とアセチルアセトンとの混合時間と吸光度との関係を示す図である。

【図9】デルタアミノレブリン酸-アセチルアセトン反応、およびデルタアミノレブリン酸-アセト酢酸メチル反応における混合時間と吸光度との関係を示す図であ

る。

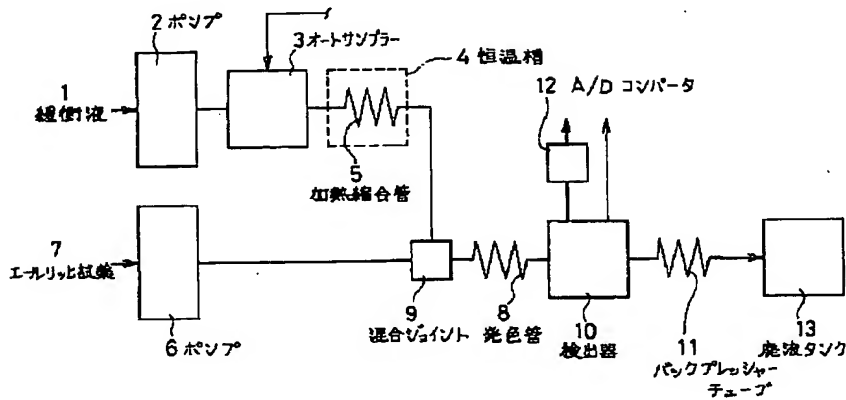
【図10】異なる濃度のデルタアミノレブリン酸の加熱温度と吸光度との関係を示す図である。

【符号の説明】

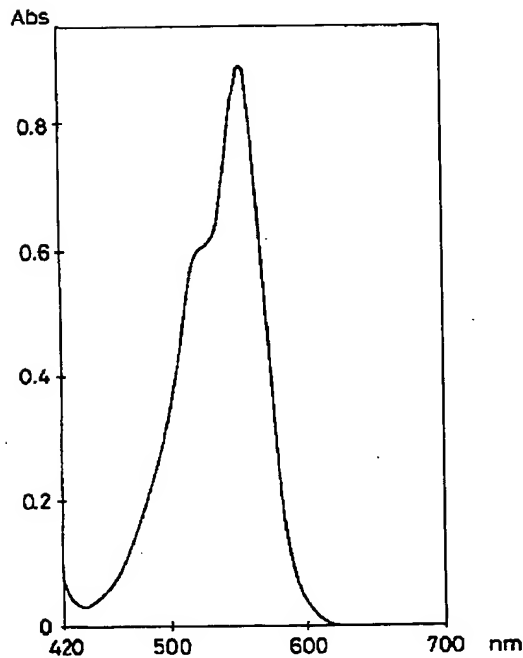
- 1……緩衝液  
2、6……ポンプ  
3……オートサンプラー  
4……油浴またはアルミブロックの恒温槽  
5……加熱縮合管

- 7……エールリッヒ試薬  
8……発色管  
9……混合ジョイント  
10……検出器  
11……バックプレッシャーチューブ  
12……A/Dコンバータ  
13……廃液タンク

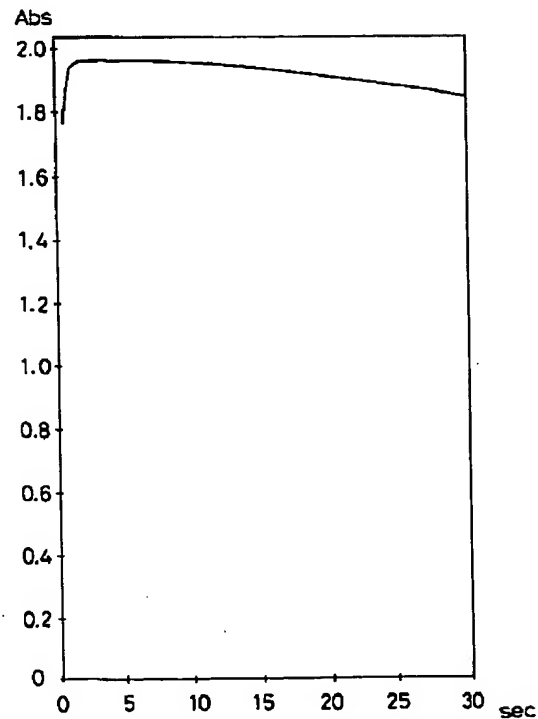
【図1】



【図3】



【図4】



る。

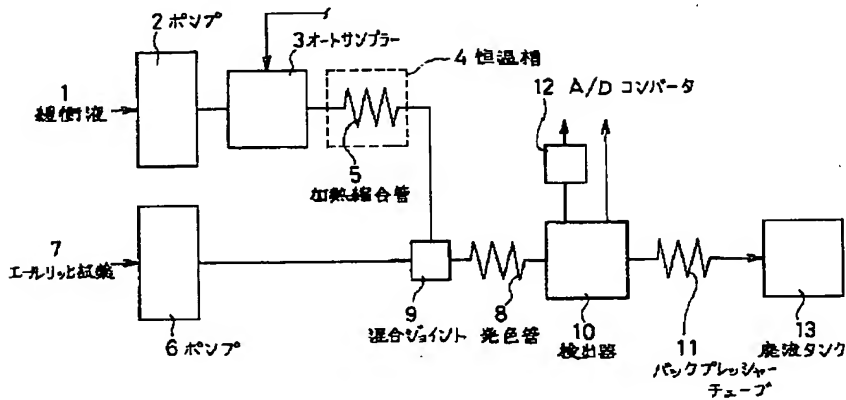
【図10】異なる濃度のデルタアミノレブリン酸の加熱温度と吸光度との関係を示す図である。

【符号の説明】

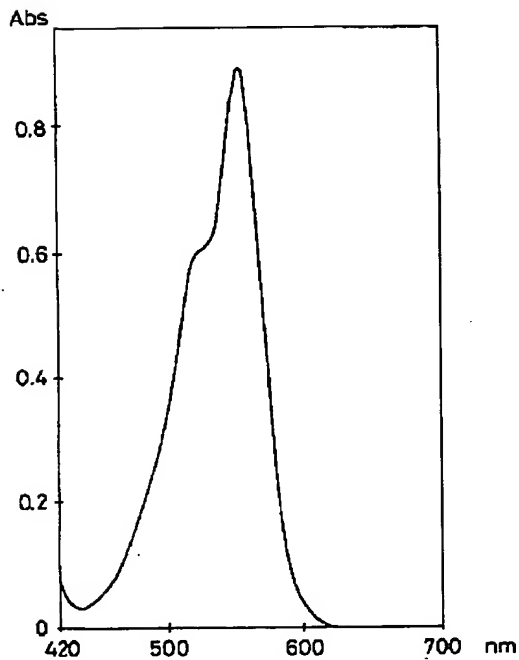
- 1……緩衝液  
2、6……ポンプ  
3……オートサンプラー  
4……油浴またはアルミブロックの恒温槽  
5……加熱縮合管

- 7……エールリッヒ試薬  
8……発色管  
9……混合ジョイント  
10……検出器  
11……バックプレッシャーチューブ  
12……A/Dコンバータ  
13……廃液タンク

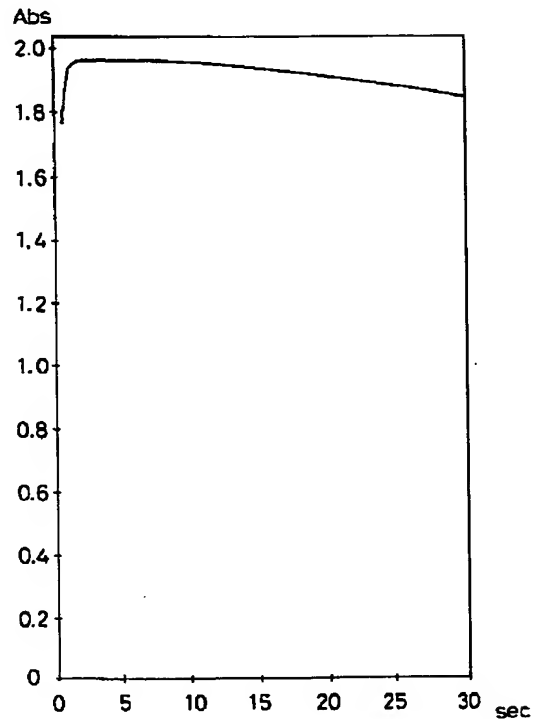
【図1】



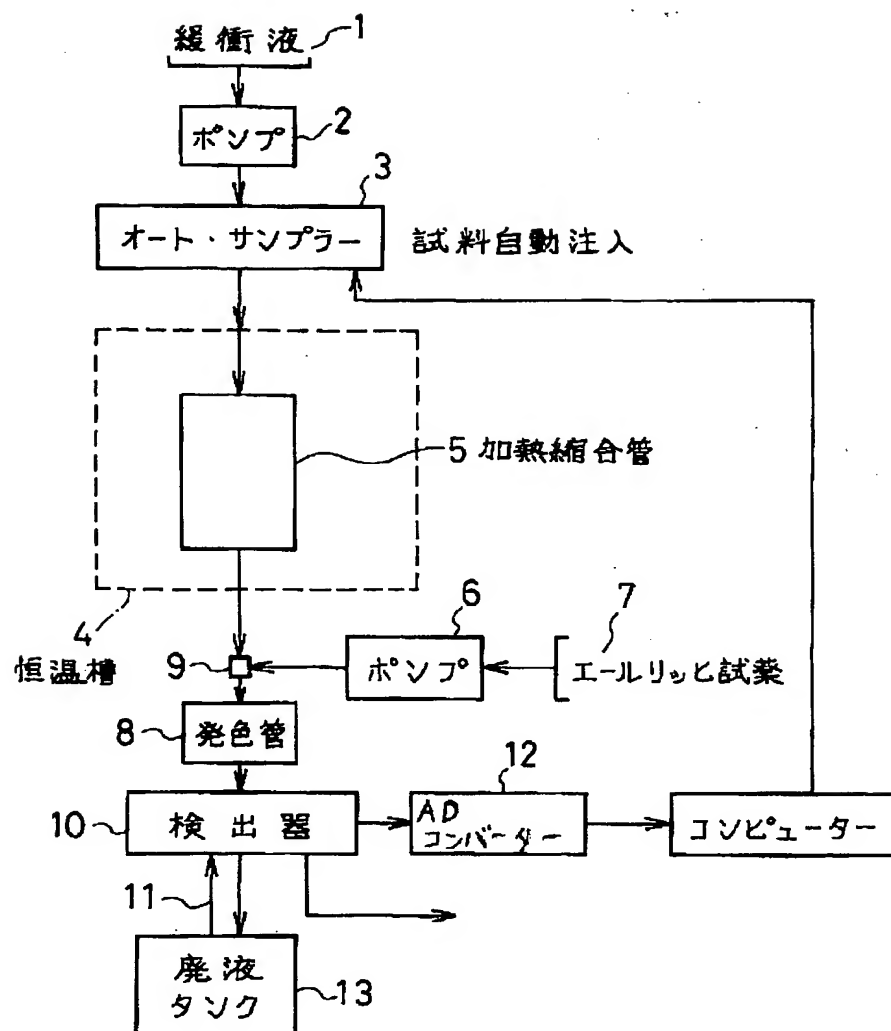
【図3】



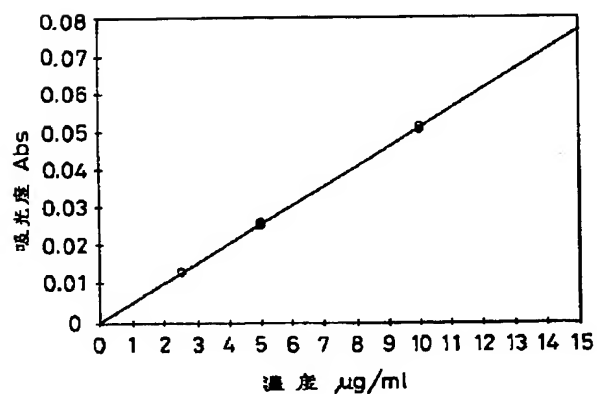
【図4】



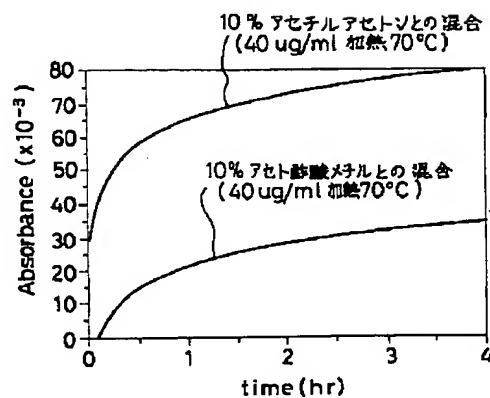
【図2】



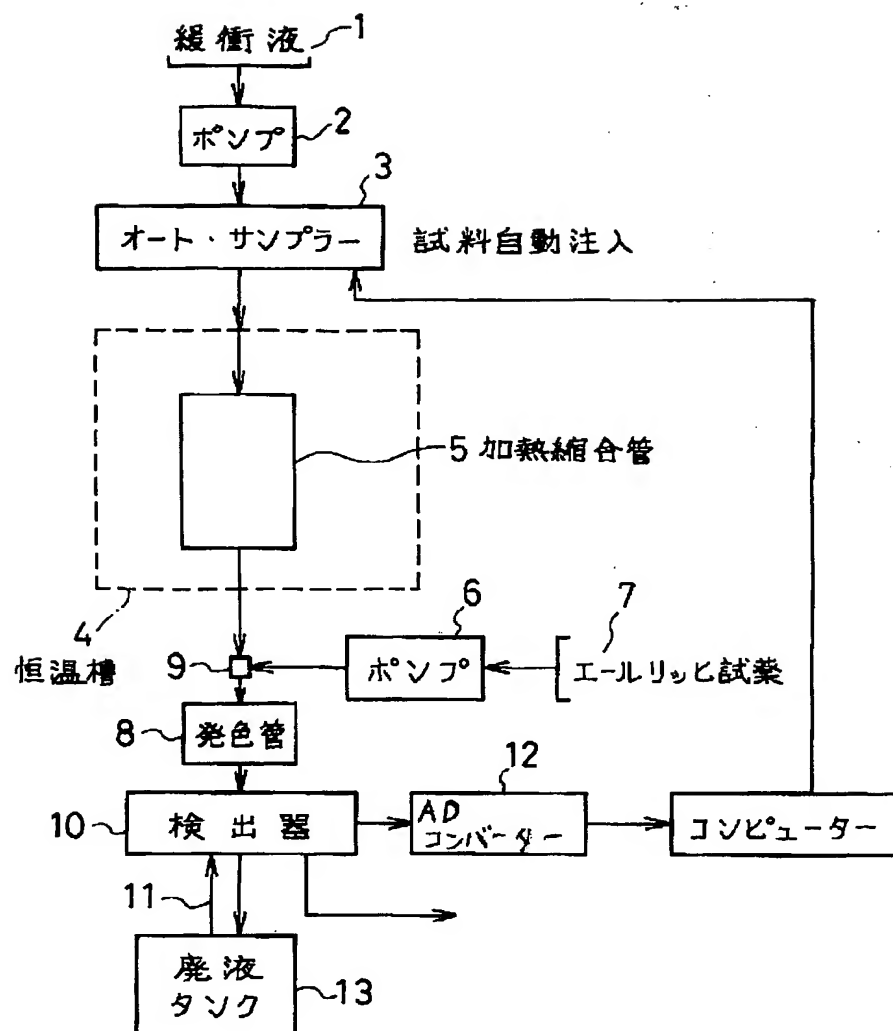
【図7】



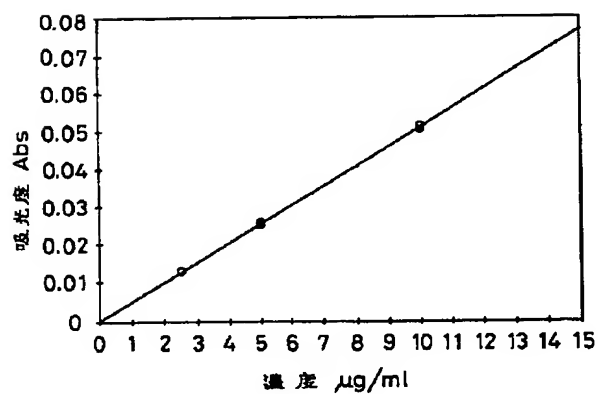
【図9】



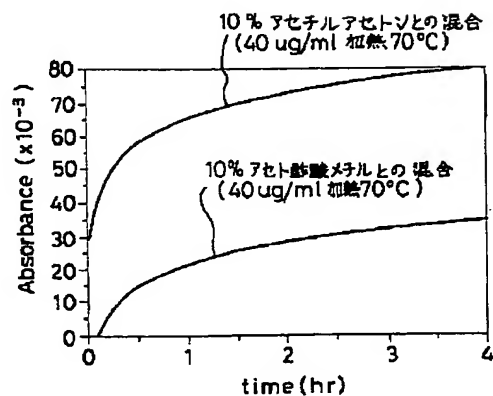
【図2】



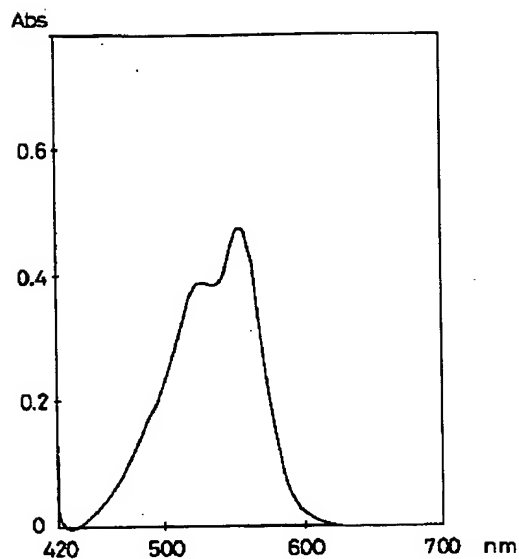
【図7】



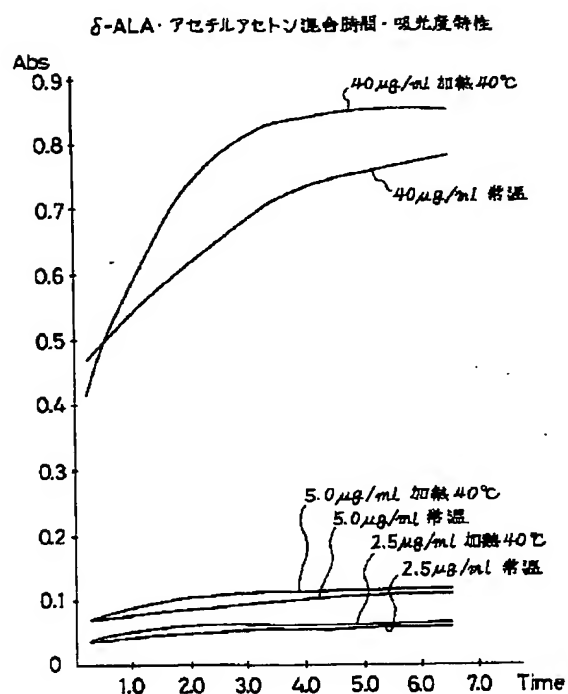
【図9】



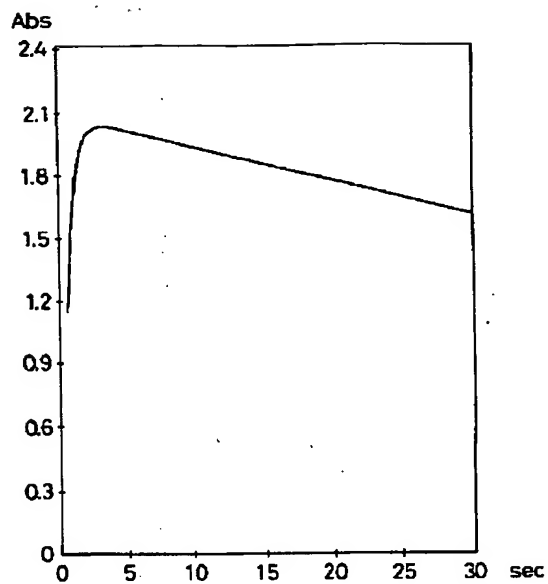
【図5】



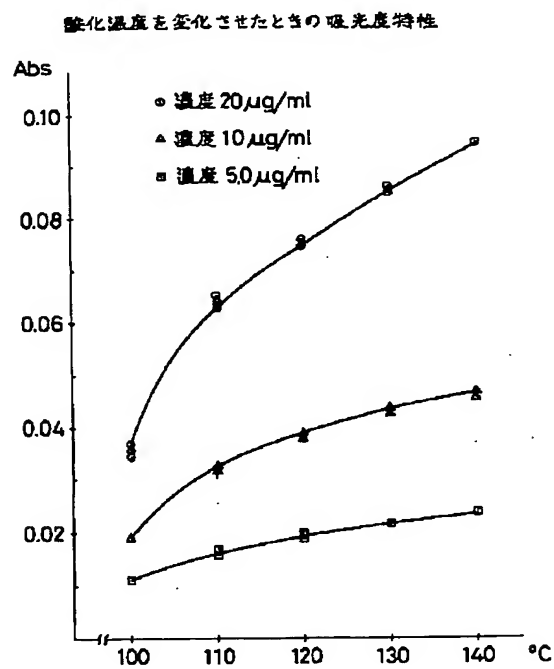
【図8】



【図6】

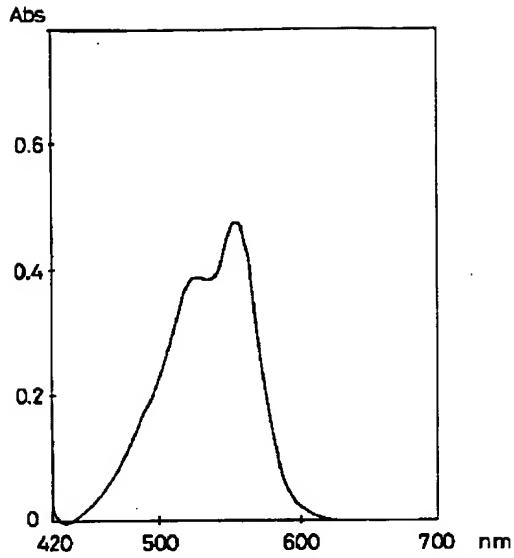


【図10】

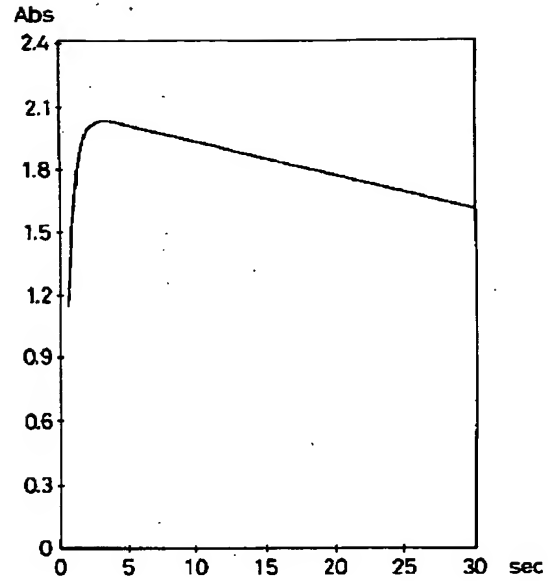




【図5】

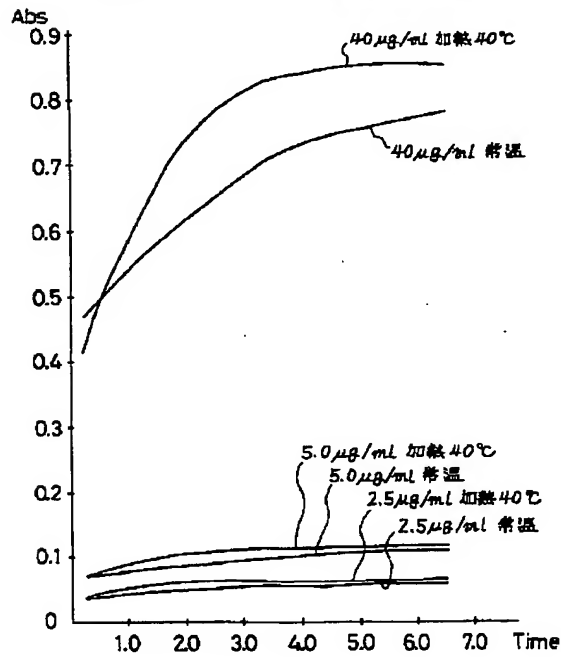


【図6】



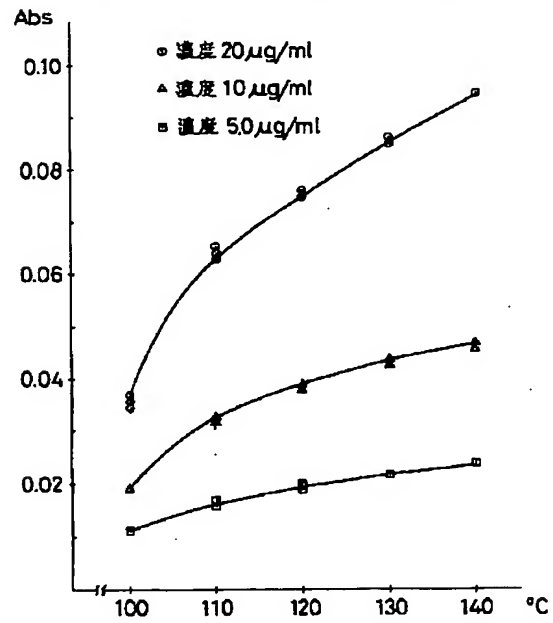
【図8】

$\delta$ -ALA・アセチルアセトン混合時間-吸光度特性



【図10】

酸化温度を変化させたときの吸光度特性



【手続補正書】

【提出日】平成5年4月8日

【手続補正2】

【補正対象書類名】図面

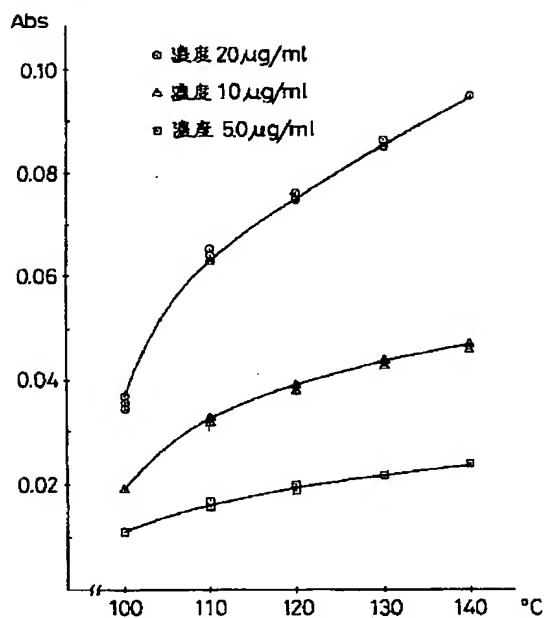
【補正対象項目名】図10

【補正方法】変更

【補正内容】

【図10】

加熱温度を変化させたときの吸光度特性



フロントページの続き

(72)発明者 南崎光宏

神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌ  
オーケーイージーアンドジーオプトエレクトロニクス株式会社内

(72)発明者 手塚隆之

神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌ  
オーケーイージーアンドジーオプトエレクトロニクス株式会社内

(72)発明者 尾崎和行

神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌ  
オーケーイージーアンドジーオプトエレクトロニクス株式会社内

【手続補正書】

【提出日】平成5年4月8日

【手続補正2】

【補正対象書類名】図面

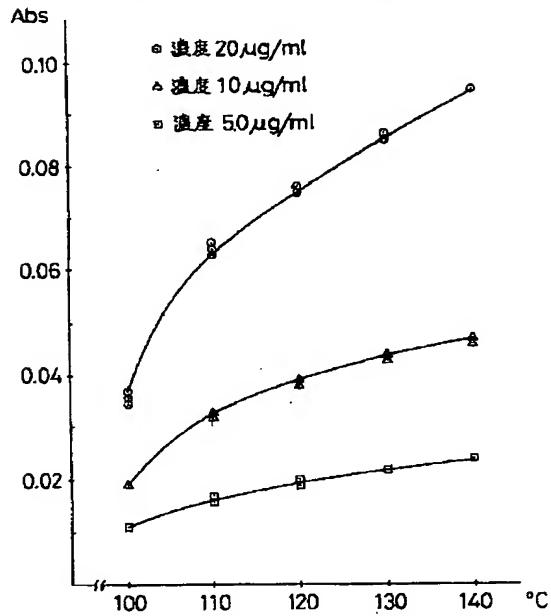
【補正対象項目名】図10

【補正方法】変更

【補正内容】

【図10】

加熱温度を変化させたときの吸光度特性



フロントページの続き

(72)発明者 南崎光宏  
神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌ  
オーケーイージーアンドジーオプトエレクトロニクス株式会社内

(72)発明者 手塚隆之  
神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌ  
オーケーイージーアンドジーオプトエレクトロニクス株式会社内

(72)発明者 尾崎和行  
神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌ  
オーケーイージーアンドジーオプトエレクトロニクス株式会社内